Münster 1936 No 57 Med DiSS

Aus dem Pharmakologischen Institut der
Westfäl. Wilhelms-Universität Münster i. W.
Direktor: Professor Dr. med. et phil. H. Freund.

Körpereigene Wirkstoffe und Pepsinverdauung. Versuche mit Kasein, Serum und Muskelgewebe.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W.

vorgelegt von

Theodor Dortmann
aus Bottrop i. Westf.

Buch- u. Kunstdruckerei W. Postberg, Bottrop i. W.

1935

Dekan: Professor Dr. Jötten.
Referent: Professor Dr. med. et phil. H. Freund.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.).

Meinen lieben Eltern!

I. Einleitung.

Der Magendarmkanal gilt von jeher als Bildungsstätte von Giftstoffen, die unter bestimmten Voraussetzungen in die Blutbahn gelangen und eine ursächliche Bedeutung für gewisse Erkrankungen (Ileus u. a.) haben sollen. Andererseits ist bekannt, daß eine Reihe von körpereigenen Giftstoffen wie Adrenalin, Hypophysenhinterlappenhormone und Insulin im Magen- und Darmkanal rasch inaktiviert oder zerstört werden. Ob die Bildung und Zerstörung von pharmakologisch wirksamen Substanzen im Magendarmtraktus mehr auf bakterielle Einflüsse oder mehr auf Tätigkeit von Verdauungsfermenten zurückzuführen ist, entzieht sich vorläufig einer genaueren Kenntnis.

Am Beispiel der peptischen Verdauung von Kasein, Serum und Muskelgewebe sollte deshalb zunächst untersucht werden, ob neue pharmakologisch aktive Substanzen entstehen und ob präformierte Wirkstoffe dabei verändert werden.

II. Methodik.

Als Substrate wurden verwendet Kasein (nach Hammarsten), frisches Rinderserum und frische

Muskulatur vom Kaninchen. Die Aufarbeitung der verdauten Ansätze geschah in Form wässriger und alkoholischer Extrakte.

Zur Herstellung der ersteren wurde das Verdauungsgemisch durch Zusatz von fester Trichloressigsäure enteiweißt. Das eiweißfreie Filtrat (Sulfosalizylsäureprobe) wurde zur Entfernung überschüssiger Trichloressigsäure im modifizierten Soxlethapparat mehrere Stunden mit Äther extrahiert. Nach Neutralisation wurde die Lösung im Vakuum bei 40—50° C zur Trokkene eingeengt und der Rückstand nach Lösen in einer kleinen Menge Aqua dest. als „Tr-Filtrat" pharmakologisch geprüft.

Außerdem wurden wässrige Extrakte durch Dialyse des Verdauungsgemisches in Schleicher-Schüll'schen Dialysierhülsen gegen Aqua dest. gewonnen. Das Dialysat wurde nach Neutralisation im Vakuum bei 40—50° C zur Trockene eingeengt, der Rückstand in einer kleinen Menge Aqua dest. aufgenommen und als „Dialysat" untersucht.

Zur Gewinnung alkoholischer Extrakte und speziell zum Nachweis histaminähnlicher Substanzen wurde ein von Best, Dale, Dudley und Thorpe[1]) angegebenes Verfahren verwendet. Nach der Verdauung wurde das

[1]) H. Best, H. H. Dale, H. W. Dudley und W. V. Thorpe: Journ. of. physiol. 62, 397, (1927).

Gemisch mit der doppelten Menge von 96%igem Alkohol versetzt und nach 24stündigem Stehen im Eisschrank, filtriert. Das Filtrat wurde mit Schwefelsäure (4 ccm 20%ige Schwefelsäure auf 1000 ccm) angesäuert und nach 24stündigem Stehen im Eisschrank erneut filtriert, neutralisiert und im Vakuum bei 40—50° C auf ein möglichst kleines Volumen (50—70 ccm) eingeengt. Durch Zusatz von absolutem Alkohol wurde eine 80%ige alkoholische Lösung hergestellt, die zur Fällung wirksamer Stoffe mit der dreifachen Menge Aceton versetzt wurde. Nach längerem Stehen und Abtrennen der überstehenden Flüssigkeit wurde die „Acetonfällung" bei gelinder Wärme getrocknet, in wenig Aqua dest. gelöst und in zwei gleiche Teile geteilt. Der eine Teil wurde mit Salzsäure angesäuert (3—4 %), zwei Stunden im siedenden Wasserbad hydrolysiert, mit Natronlauge neutralisiert und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Der andere Teil wurde ebenso behandelt, aber ohne Hydrolyse sofort neutralisiert und aufgefüllt. Beide Lösungen wurden ebenso wie das Tr.-Filtrat und Dialysat am Blutdruck des Kaninchens in tiefer Äthernarkose und am isolierten Kaninchendünndarm untersucht.

III. Versuche mit Kasein.

Den Verdauungsversuchen mit Kasein lag folgender Ansatz zugrunde: 200 ccm einer

5%igen Lösung von Kasein wurden mit 0,2 g Pepsin, 22 ccm n/1 Salzsäure und 2 ccm Toluol versetzt und bei 38° C bebrütet. Nach 24 Stunden wurde die kleisterähnlich gewordene Lösung mit 100—200ccm aqu. dest. und 1—2 ccm Toluol verdünnt und weitere 12 Stunden bebrütet. Die weitere Verarbeitung geschah in der oben geschilderten Weise.

Der Blutdruck des Kaninchens in tiefer Äthernarkose wurde durch das Tr-Filtrat und Dialysat gesenkt, der isolierte Kaninchendarm erregt. Durch Atropinvorbehandlung wurde die depressorische Wirkung abgeschwächt, die darmerregende Wirkung aufgehoben. In einigen Fällen trat nach Atropinvorbehandlung eine darmhemmende Wirkung auf.

Ebenso, aber stärker, wirkte die Acetonfällung. Der Blutdruck wurde gesenkt, aber Atropin schwächte die Senkung ab. Der Darm zeigte eine zweiphasige Wirkung, bestehend aus Erregung und Hemmung. Atropin brachte die erregende Wirkung zum Verschwinden, während die Darmhemmung bestehen blieb. Das Säurehydrolysat hatte dieselbe Wirkung, aber schwächer.

Die pharmakologische Analyse ergab die Anwesenheit von adenosinartigen und cholinähnlichen Stoffen. Sie kommen wie Wenzel[1])

[1]) A. Wenzel: Inaugural-Dissertation, Münster i. W. 1932.

nachgewiesen hat, in der Milch, dem Ausgangsprodukt des Kaseins bereits präformiert vor. Histamin, histaminähnliche Substanzen oder andere pharmakologisch wirksame Stoffe wurden bei der Pepsinverdauung des Kaseins nicht gebildet.

IV. Versuche mit Serum.

Zu den Serumversuchen wurde frisches Rinderserum verwendet: 20 ccm Serum wurden mit 80 ccm aqu. dest., 22 ccm n/1 Salzsäure, 0,2 g Pepsin und 2 ccm Toluol versetzt, 48 Stunden bei 40° C bebrütet und auf Tr.-Filtrat, Dialysat und Acetonfällung verarbeitet.

Alle Extrakte senkten den Blutdruck des Kaninchens in tiefer Äthernarkose und hemmten den isolierten Kaninchendünndarm. Atropinvorbehandlung schwächte die blutdrucksenkende Wirkung und verstärkte meist die darmhemmende Wirkung. Der mit Salzsäure hydrolysierte Teil zeigte eine geringe depressorische Wirkung, die durch Atropin aufgehoben wurde. Am Darm wirkte das Hydrolysat ohne und mit Atropin noch leicht hemmend.

Das durch Pepsin verdaute Serum zeigte demnach die bekannten Wirkungen des nativen Serums. Die Wirkung ist zurückzuführen auf präformierte adenosinartige Stoffe und zu einem kleinen Teil auch auf cholinähnliche Stoffe.

Histamin, histaminähnliche Substanzen und andere Wirkstoffe werden bei der Pepsinverdauung des frischen Rinderserums nicht gebildet. Die Befunde stimmen mit den Ergebnissen von Zipf und Hülsmeyer[1]) vollkommen überein.

V. Versuche mit Muskelgewebe.

Die Verdauungsgemische mit Muskelgewebe wurden in der oben angegebenen Weise verarbeitet. Als Ansatz dienten 50 g frische, fein zerkleinerte Muskulatur, die in 200 ccm aqu. dest. aufgeschwemmt und nach Zusatz von 22 ccm n/1 Salzsäure, 0,5 g Pepsin und 6 ccm Toluol 48 Stunden bei 38—40° C bebrütet wurden. Dialyseversuche wurden mit Muskelgewebe nicht vorgenommen.

Das Tr.-Filtrat wirkt am Blutdruck des Kaninchens in tiefer Äthernarkose stark depressorisch. Die Blutdrucksenkung wurde durch Atropinvorbehandlung des Versuchstieres leicht abgeschwächt. Am isolierten Kaninchendünndarm wurde ohne und mit Atropinzusatz nur starke Hemmung beobachtet. Der isolierte Meerschweinchenuterus erfuhr eine starke Erregung, die durch Atropin nicht merklich abgeschwächt wurde.

---

[1]) K. Zipf u. P. Hülsmeyer: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 173, I. 1933.

Das Tr.-Filtrat aus verdauter Muskulatur enthielt also ebenso wie die Tr-Filtrate (Z i p f [1]) aus nicht verdautem Muskel vorwiegend adenosinartige Stoffe neben kleinen Mengen von cholinähnlichen Substanzen.

Die Acetonfällung wirkt am Blutdruck depressorisch. Die Blutdrucksenkung wurde durch Atropinvorbehandlung des Versuchstieres nicht deutlich abgeschwächt. Am Kaninchendünndarm kam es zur starken Hemmung, die durch Atropin nicht merklich beeinflußt wurde. Nach Säurehydrolyse trat an Stelle der darmhemmenden Wirkung eine erregende, die durch Atropin aufgehoben wurde.

Die Acetonfällung zeigte demnach nur adenosinartige und cholinähnliche Wirkung.

Die Befunde mit dem Tr-Filtrat und Acetonfällung stimmen miteinander überein und zeigen, daß im frischen Muskel Histamin und histaminähnliche Stoffe biologisch nicht nachweisbar sind. Für die Bildung anderer Wirkstoffe konnten keine Anhaltspunkte gewonnen werden.

VI. Besprechung der Ergebnisse.

Bei der Verarbeitung der Verdauungsgemische mit Trichloressigsäure wurden mit dem Eiweiß auch die durch die Pepsinverdauung

[1]) K. Zipf: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 157, 97, (1930).

entstandenen höheren Abbauprodukte ausgefällt. Bei der parenteralen Verdauung spielen diese, wie vor allem in den grundlegenden Arbeiten von Schittenhelm und Weichardt[1]) gezeigt wurde, eine erhebliche Rolle für das Zustandekommen von Giftwirkungen. Bei der Magenverdauung stellt der durch Pepsin bewirkte Abbaugrad nur die Vorbereitung für die weiteren im Darm vor sich gehenden Abbauvorgänge dar, so daß mit einer resorptiven Giftwirkung dieser höheren Eiweißabbaustufen im Rahmen der eingangs gestellten Frage nicht zu rechnen war. Immerhin kennen wir eine Reihe von Wirkstoffen, die am intakten Eiweiß adsorbiert unwirksam und unter Umständen durch den Abbau frei werden können. Sowohl nach der Enteiweißung mit Trichloressigsäure als auch bei der Dialyse kommen nur die tiefsten Abbaustufen in Betracht. In beiden Fällen handelt es sich dabei um die wasserlöslichen Substanzen. Bei der Extraktion der Verdauungsgemische mit Alkohol werden zunächst auch Fette und Lipoide mit anderen alkohollöslichen Stoffen zusammen in Lösung gebracht, und dadurch von den nur wasserlöslichen Stoffen getrennt. Die weitere Behandlung mit Aceton ermöglicht eine Abtrennung

[1]) Schittenhelm u. Weichardt: Z. f. exp. Path. u. Therapie 11, 69, (1912). Münch. Med. Wo. 1910, 1911, 1912.

der Wirkstoffe von unwirksamen Beimengungen. Im wesentlichen gehen in die Acetonfällung Adenosin und Histamin. Nach den englischen Autoren, deren Methode oben angewandt wurde, finden sich mindestens 70 % der blutdrucksenkenden Stoffe aus Organextrakten in dieser Fraktion. Biologisch lassen sich die drei Gruppen blutdrucksenkender Abbaustoffe in folgender Weise unterscheiden: Das Histamin wirkt am Darm erregend und zwar auch nach Atropinisierung; am Kaninchen in tiefer Äthernarkose macht es Blutdrucksteigerung. Das Acetylcholin wirkt blutdrucksenkend und darmerregend; aber die Darmerregung wird durch Atropin völlig aufgehoben; auch die Blutdrucksenkung fehlt am atropinisierten Tier. Die Gruppe des Adenosins senkt den Blutdruck auch des atropinisierten Kaninchens in tiefer Äthernarkose und wirkt am Darm hemmend.

Auf Grund der obigen Untersuchungen läßt sich in allen Verarbeitungen der Verdauungsgemische das Histamin ausschließen.

VII. Zusammenfassung.

1. Durch die Einwirkung von Pepsin auf Kasein, frisches Rinderserum und frische Kaninchenmuskulatur entstehen keine neuen Wirkstoffe. Histamin und histaminähnliche Substanzen werden nicht gebildet.

2. Kasein, frisches Rinderserum und frische Kaninchenmuskulatur enthalten nur präformierte adenosinartige und cholinähnliche Stoffe, aber kein Histamin.

Lebenslauf.

Am 18. November 1909 wurde ich als Sohn des Volksschullehrers Hubert Dortmann und seiner Ehefrau Antonia geb. Forsthoff zu Bottrop in Westfalen geboren. Ich besuchte zunächst vier Jahre die dortige Volksschule und dann ebenda sechs Jahre das städtische Realprogymnasium. Anschließend war ich drei Jahre auf dem staatlichen Realgymnasium zu Oberhausen in Rheinland und bestand am 28. Februar 1929 die Reifeprüfung. Um Medizin zu studieren, besuchte ich die Universitäten in Münster in Westfalen, München, Innsbruck und Wien. Nach fünfsemestrigem Studium legte ich in Münster das medizinische Vorexamen ab und bestand am 14. Februar 1935 das medizinische Staatsexamen ebenfalls in Münster.

Homberg, den 17. Oktober 1935.

Theodor Dortmann.